Version 3，2026

使用说明书—HEK Trans kit01

基础信息介绍

【产品类型】：HEK293瞬转试剂盒

【产品名称】：HEK Trans kit01

【产品货号】：HEK-TK01



【包装规格】：

试剂盒组分	名称	货号/规格	保存条件
HEK293化学成分限定培养基	HEK293 CDM26 Pro	LQ26-2-1000×1	2～8℃，避光
二合一补料培养基	Tobitec FedVigor02	LQ47-125×2	2～8℃，避光
转染增强剂	CHE STE01	ML701-20×1	2～8℃，避光
转染试剂（1mg/mL）	Tobitec TR01	ML801-2×2	2～8℃，避光

【产品简介】：

HEK293 瞬转试剂盒（HEK Trans kit01）化学成分限定，适用于不同亚型的 HEK293 细胞高密度培养及瞬时转染表达，各组分配合使用可显著提高转染性能和蛋白表达水平，具有优良的稳定性和重现性。该试剂盒产品适用于科研和基于细胞培养的大规模生物制品的生产，但不可直接用于人体或作为药物使用。

【储运及有效期】：

2～8℃，避光运输；避光存储（存储温度参见【包装规格】）；有效期 6 个月。

上海东富龙生物试剂有限公司 上海市闵行区都会路 139 号 http://bitec.tofflon.com 电话：+86 21-64909996-393 传真：+86 21-64909996-730

【质量指标】：

产品指标	HEK293 CDM26 Pro (LQ26-2)，液体	Tobitec FedVigor02 (LQ47)，液体	CHE STE01 (ML701)，液体	Tobitec TR01 (ML801)，液体
外观	淡黄色澄清液体	红色澄清液体	无色澄清液体	无色澄清液体
pH	6.9～7.5	6.6～7.4	--	--
渗透压 (mOsmol/kg)	260～320	240～340（5 倍稀释）	--	--
内毒素 (EU/mL)	＜3	＜10	＜3	＜3
无菌检测	阴性	阴性	阴性	阴性

细胞培养参考标准作业流程

细胞培养条件

参数		值
培养体积	50 mL TPP 管	10～30 mL
	125 mL 摇瓶	15～40 mL
	250 mL 摇瓶	40～80 mL
	500 mL 摇瓶	100～200 mL
	1000 mL 摇瓶	200～300 mL
摇床转速	TPP 管	50mm 振幅：200 rpm
	摇瓶	25mm 振幅：150 rpm
	摇瓶	50mm 振幅：90～120 rpm
培养环境	接种密度	0.5×10^6 cells/mL
	培养温度	36～38℃
	CO_2 浓度	5%
	湿度	＞80% RH

上海东富龙生物试剂有限公司 上海市闵行区都会路 139 号 http://bitec.tofflon.com 电话：+86 21-64909996-393 传真：+86 21-64909996-730

细胞复苏

1. 37℃水浴中预热 HEK293 CDM26 Pro (LQ26-2)培养基；

2. 使用 75%酒精喷洒培养基瓶，并置于生物安全柜；

3. 复苏 1 支细胞，并在 37℃水浴中，轻轻晃动冻存管，解冻 1 分钟；

4. 将冻存管中的细胞轻轻移到含有 30mL 已预热 HEK293 CDM26 Pro (LQ26-2)培养基的离心管中；

5. 150g～300g (约 800rpm～1200rpm)离心 5 分钟，丢弃上清液并将细胞重悬于 10～30mL 新鲜预热的 HEK293 CDM26 Pro (LQ26-2)培养基中，调节活细胞密度至 0.5×10^6 cells/mL；

6. 取 0.5mL 细胞悬液，用细胞计数仪分析活细胞密度 (×10^6 cells/mL)和细胞活率 (%)。

7. 如果细胞活率 ＞85%，将细胞置于规定的环境条件（参见上表“细胞培养条件”）下进行细胞培养。

细胞传代

1. 将 HEK293 CDM26 Pro (LQ26-2)培养基放入 37℃条件下预热 20～30 min；

2. 取活细胞密度 ≥2×10^6 cells/mL、细胞活率 ≥85%、处于对数生长期中期的细胞进行传代；

3. 根据 0.5×10^6 cells/mL 的接种密度和传代体积，计算所需种子液量；

4. 无菌转移所需量的种子液，添加至含所需体积的已预热 HEK293 CDM26 Pro (LQ26-2)培养基的摇瓶中；

5. 将摇瓶置于规定的环境条件（参见上表“细胞培养条件”）下进行细胞培养；

6. 每 2～3 天用新鲜的培养基按上述步骤进行传代培养。

7. 传代前，如果活细胞密度低于 2.0×10^6 cells/mL，或细胞活率低于 85%，需要 150g～300g (大约 800rpm～1200rpm)离心 5 分钟处理细胞。轻轻弃上清，使用已预热的 HEK293 CDM26 Pro (LQ26-2)培养基重悬细胞，取样计数后进行细胞传代。

细胞适应

直接适应

1. 对于可以直接适应的细胞，可以从无血清培养基中直接接种到 HEK293 CDM26 Pro (LQ26-2)培养基中，接种密度参考传代步骤，并需要依据具体情况而定。

2. 继续传代细胞，直到细胞稳定生长。

3. 传代几次后，活细胞密度在接种的 3～4 天内达到 2×10^6 cells/mL 及以上、细胞活率 ＞90%，且倍增时间稳定，此时可以认为细胞已被驯化成功。

上海东富龙生物试剂有限公司 上海市闵行区都会路 139 号 http://bitec.tofflon.com 电话：+86 21-64909996-393 传真：+86 21-64909996-730

连续适应

1. 对于传统的生长在 5～10%血清或无血清的细胞，采用连续适应法，接种密度 0.5×10^6 cells/mL。

2. 监测细胞生长情况，直到活细胞密度达到 ≥2×10^6 cells/mL。

3. 用 HEK293 CDM26 Pro (LQ26-2)培养基：原始培养基 =25 : 75 的比例稀释细胞。直到这个比例的培养基细胞生长良好，再进一步稀释培养，按 25 : 75，50 : 50，75 : 25，90 : 10，100 : 0，逐步提高 HEK293 CDM26 Pro (LQ26-2)培养基的比例。

4. 在完全使用 HEK293 CDM26 Pro (LQ26-2)培养基接种 3～4 天之后，活细胞计数应该至少达到 2×10^6 cells/mL，细胞活率 ≥90%。此时，细胞已经完全适应 HEK293 CDM26 Pro (LQ26-2)培养基。

细胞冻存

1. 准备处于对数生长中期的、细胞活率 >90%、状态较好的细胞。

2. 测定活细胞密度，计算所需的冻存培养基体积，最终活细胞密度 >1×10^7 cells/mL。

3. 准备所需的冻存培养基：HEK293 CDM26 Pro 培养基 + 10% DMSO，4℃冷藏保存。

4. 300g 离心 5 分钟，弃去上清，用冻存培养基重新悬浮细胞。

5. 根据项目具体需要，将悬浮液进行等分保存于适宜规格的冻存管中。

6. 按照标准程序，对冻存管进行自动或手工操作降温 (每分钟降 1℃)。

7. 将细胞转移到液氮罐中保存。

参考瞬时转染策略

1. HEK293 细胞完全适应后，按 0.5x10^6 cells/mL 传代扩增，直到细胞体积满足转染体积时，进行转染前细胞密度稀释。即在转染前一天，使用新鲜 HEK293 CDM26 Pro (LQ26-2) 培养基将细胞密度稀释至 2x10^6 cells/mL，保证转染当天活细胞密度维持在 4～6x10^6 cells/mL 之间。

2. 执行转染作业（以 30mL 培养体积为例），最佳转染条件应根据具体情况进行优化，以下转染条件仅供参考使用：

VCD	DNA	Tobitec TR01
4～6 x10^6 cells/mL，活率> 95%	1.3mg/L	3.9mg/L

上海东富龙生物试剂有限公司 上海市闵行区都会路 139 号 http://bitec.tofflon.com 电话：+86 21-64909996-393 传真：+86 21-64909996-730

2.1. 转染当天（D0），先对细胞进行计数，保证活细胞密度在 4～6x10^6 cells/mL 之间，将 39ug 质粒 DNA 用 1.5mL HEK293 CDM26 Pro (LQ26-2) 培养基进行稀释并混匀，再将 117uL 的转染试剂 Tobitec TR01（1mg/mL）用 1.5mL HEK293 CDM26 Pro (LQ26-2) 培养基稀释并混匀，将混合后的 Tobitec TR01 加入混匀的 DNA 溶液缓慢轻柔的混合均匀，静置孵育 10～15 分钟。

2.2. 取出准备转染的细胞液，将 DNA 和 Tobitec TR01 复合物缓慢滴加到细胞培养液中，边滴加边摇匀细胞液，直到完全滴加完，将摇瓶置于规定的环境条件（参见上表“细胞培养条件”）下进行细胞培养，摇床设置温度 36.5℃或 37℃，培养过程中不降温。

3. 转染后 8～24h 内添加培养体系 2%的转染增强剂 CHE STE01（仅此一次）并根据工艺 1 进行补料。

附录：参考补料工艺：

测试工艺	参考补料工艺
工艺 1	D1,D4,D7 每次补加 7%的 Tobitec FedVigor02（推荐）
工艺 2	D1,D3,D5,D7 每次补 3%的 Tobitec FedVigor02（备选 1）
工艺 3	D3,D6,D9 每次补 5%的 Tobitec FedVigor02（备选 2）

注：1）实验过程中，葡萄糖 ≤3 g/L 时，按 5 g/L 的终浓度补糖，补料本身含有葡萄糖一般不用额外补充（Tobitec FedVigor02 含糖量 75g/L）。

2）细胞活率≤70%即可结束培养，测试目的产物的表达量。

【说明书核准及修改日期】： 2026 年 01 月

【技术支持】：

根据销售条款，如您遇任何问题，请与我公司技术人员联系 ：

Tel：+86 21-64909996-393 Fax： +86 21-64909996-730

Email：bioreagent@tofflon.com